

# TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS

Expéditeur : L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE  
LA RECHERCHE INTERNATIONALE

Destinataire :

voir le formulaire PCT/ISA/220

## PCT

OPINION ÉCRITE DE L'ADMINISTRATION  
CHARGÉE DE LA RECHERCHE  
INTERNATIONALE

(règle 43bis.1 du PCT)

Date d'expédition

(jour/mois/année) voir le formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire  
voir le formulaire PCT/ISA/220

**POUR SUITE À DONNER**

Voir le point 2 ci-dessous

Demande internationale No.

PCT/FR2004/003115

Date du dépôt international (jour/mois/année)

03.12.2004

Date de priorité (jour/mois/année)

05.12.2003

Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB  
C12Q1/68

Déposant

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE

1. La présente opinion contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :

- ☒ Cadre n° I Base de l'opinion
- ☐ Cadre n° II Priorité
- ☐ Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- ☐ Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention
- ☒ Cadre n° V Déclaration motivée selon la règle 43bis.1(a)(i) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- ☐ Cadre n° VI Certains documents cités
- ☐ Cadre n° VII Irrégularités dans la demande internationale
- ☐ Cadre n° VIII Observations relatives à la demande internationale

2. **SUITE À DONNER**

Si une demande d'examen préliminaire internationale est présentée, la présente opinion sera considérée comme une opinion écrite de l'administration chargée de l'examen préliminaire international, sauf dans le cas où le déposant a choisi une administration différente de la présente administration aux fins de l'examen préliminaire international et que l'administration considérée a notifié au Bureau international, selon la règle 66.1bis.b), qu'elle n'entend pas considérer comme les siennes les opinions écrites de la présente administration chargée de la recherche internationale.

Si, comme cela est indiqué ci-dessus, la présente opinion écrite est considérée comme l'opinion écrite de l'administration chargée de l'examen préliminaire international, le déposant est invité à soumettre à l'administration chargée de l'examen préliminaire international une réponse écrite, avec le cas échéant des modifications, avant l'expiration d'un délai de 3 mois à compter de la date d'envoi du formulaire PCT/ISA/220 ou avant l'expiration d'un délai de 22 mois à compter de la date de priorité, le délai expirant le dernier devant être appliqué.

Pour plus de détails sur les possibilités offertes au déposant, se référer au formulaire PCT/ISA/220.

3. Pour de plus amples détails, se référer aux notes relatives au formulaire PCT/ISA/220.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la  
recherche internationale



Office européen des brevets - P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas  
Tél. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl  
Fax: +31 70 340 - 3016

Fonctionnaire autorisé

N° de téléphone +31 70 340-



---

**Cadre n°I Base de l'opinion**

---

1. En ce qui concerne la **langue**, la présente opinion a été établie sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.  
☐ La présente opinion a été établie sur la base d'une traduction de la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée dans la langue suivante , qui est la langue de la traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon les règles 12.3 et 23.1.b)).
2. En ce qui concerne **la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale, le cas échéant, la recherche internationale a été effectuée sur la base des éléments suivants :
  - a. Nature de l'élément :  
☒ un listage de la ou des séquences  
☐ un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences
  - b. Type de support :  
☒ sur papier sous forme écrite  
☒ sur support électronique sous forme déchiffrable par ordinateur
  - c. Moment du dépôt ou de la remise :  
☒ contenu(s) dans la demande internationale telle que déposée  
☒ déposé(s) avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur  
☐ remis ultérieurement à la présente administration aux fins de la recherche
3. ☐ De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.
4. Commentaires complémentaires :

---

**Cadre n° V Déclaration motivée selon la règle 43*b/s*.1(a)(i) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration**

---

**1. Déclaration**

Nouveauté	Oui :	Revendications	1-22
	Non :	Revendications	
Activité inventive	Oui :	Revendications	
	Non :	Revendications	1-22
Possibilité d'application industrielle	Oui :	Revendications	1-22
	Non :	Revendications	

**2. Citations et explications**

**voir feuille séparée**

**Concernant le point V**

**Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle**

1 Il est fait référence aux documents suivants:

- D1: WO 90/04648 A (MORLEY ALEXANDER ALAN) 3 mai 1990 (1990-05-03).
- D2: PASQUAL NICOLAS ET AL: "Quantitative and qualitative changes in V-J alpha rearrangements during mouse thymocytes differentiation: implication for a limited T cell receptor alpha chain repertoire." THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 196, no. 9, 4 novembre 2002 (2002-11-04), pages 1163-1173.
- D3: PANZARA M A ET AL: "Analysis of the T cell repertoire using the PCR and specific oligonucleotide primers" BIOTECHNIQUES, EATON PUBLISHING, NATICK, US, vol. 12, no. 5, 1992, pages 728-735.
- D4: GLUSMAN G ET AL: "Comparative genomics of the human and mouse T cell receptor loci." IMMUNITY. SEP 2001, vol. 15, no. 3, septembre 2001 (2001-09), pages 337-349.
- D5: VAN DONGEN J J M ET AL: "Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936." LEUKEMIA (BASINGSTOKE), vol. 17, no. 12, 1 décembre 2003 (2003-12-01), pages 2257-2317.
- D6: HODGES E ET AL: "Diagnostic role of tests for T cell receptor (TCR) genes." JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY (LONDON), vol. 56, no. 1, janvier 2003 (2003-01), pages 1-11.

**2 NOUVEAUTE (Art. 33(2) PCT)**

2.1 L'objet des revendications 1-22 apparaît nouveau au vu de l'état de l'art cité dans le rapport de recherche internationale. Ledit objet remplit donc les conditions de l'Art. 33(2) PCT.

**3 ACTIVITE INVENTIVE (Art. 33(3) PCT)**

3.1 La présente demande ne satisfait pas aux exigences de l'Article 33(3) PCT, car l'objet des revendications 1-22 n'implique pas une activité inventive pour les raisons suivantes.

3.2 La présente demande décrit la détermination de réarrangements génétiques du locus TCRAD dans les lymphocytes T. Le locus TCRAD, de même que TCRB et TCRG, comporte entre autres un nombre de gènes V et J susceptibles d'être réarrangés (cf. description p. 1-2). Les gènes codant pour les immunoglobulines sont également susceptibles de tels réarrangements (lymphocytes B).

3.2.1 Les revendications 1 et 2 décrivent des procédés d'évaluation quantitative d'un réarrangement ou d'une recombinaison génétique ciblée d'un individu comprenant l'utilisation d'amorces s'hybridant en amont ou à l'extrémité d'un gène Vx ou d'un gène Jy.

3.2.2 Les termes Vx et Jy n'étant définis ni dans les revendications ni dans la description peuvent être entendus dans la revendication 1 comme l'un quelconque des gènes V (pour Vx) ou l'un quelconque des gènes J (pour Jy) de l'un quelconque des loci TCR humains (i.e. TCRAD, TCRB, TCRG) ou des loci codant pour des immunoglobulines. La revendication 1 couvre donc un procédé de détection de réarrangement de l'ADN génomique humain de l'un quelconque des loci TCR (i.e. TCRAD, TCRB, TCRG) ou des loci codant pour des immunoglobulines. La revendication 2, qui précise que les segments V et J à amplifier correspondent à un segment V ou J de la chaîne alpha d'un TCR, est limitée à un procédé de détection de réarrangements du locus TCRAD.

3.2.3 D1 est considéré comme représentant l'état de l'art le plus proche quant à la revendication 1. Ce document décrit un procédé pour la détermination de l'homogénéité ou de l'hétérogénéité de la longueur de segments du TCR dans un échantillon (p. 3, l. 16-20) comprenant l'amplification par PCR d'ADN génomique humain d'un échantillon (p. 12-13) utilisant une amorce dénommée 3VTA (p. 8 l. 31, p. 9 l. 5-6) et une amorce JAT2 (p. 8 l. 31, p. 9 l. 5) hybridant des régions V conservées du TCRA (p. 5, l. 25 à p. 6, l. 13). Lesdites amorces constituent donc un couple d'amorces ayant les caractéristiques d'un couple d'amorces selon la revendication 1. D1 décrit de plus la séparation des fragments amplifiés (p. 6, l. 30 à p. 7, l. 5) et la détection des segments réarrangés, éventuellement par l'utilisation d'une sonde d'hybridation (JAT2, p. 8 l. 31). Les proportions entre les différents fragments obtenus permettant de déterminer le caractère homogène ou hétérogène de l'échantillon, le

procédé de D1 peut être considéré comme quantitatif.

3.2.4 L'objet de la revendication 1 en diffère en ce que le procédé décrit comprend une PCR multiplex en présence de plusieurs couples d'amorces (dont au moins une s'hybride an amont ou en 5' d'un gène Vx et au moins une s'hybride en aval ou en 3' d'un gène Jy) et en ce que les étapes d'élongation de la PCR sont effectuées pendant au moins 10 minutes.

3.2.5 A la lumière de la description, il est clair que l'objectif du procédé décrit par la revendication 1 est d'identifier précisément quelles recombinaisons V(D)J ont eu lieu dans un échantillon donné, le choix des amorces dans les différents gènes V et J (qui au vu de la description diffère du choix effectué dans D1) permettant de déterminer lesdites recombinaisons selon la taille des produits d'amplification. Bien que ceci ne soit pas clairement apparent d'après la formulation de la revendication 1, il en est tenu compte dans le raisonnement suivant, étant entendu que si un mode particulier de réalisation couvert par un procédé revendiqué formulé de façon plus générale n'implique pas d'activité inventive alors ledit procédé dans son ensemble n'implique pas non plus d'activité inventive.

3.2.6 Au vu de ce qui précède, l'effet technique de la différence peut être vu dans le fait que la détection des fragments amplifiés permet de déterminer la nature des recombinaisons V(D)J ayant eu lieu dans l'échantillon.

3.2.7 Le problème que se propose de résoudre la présente invention peut donc être considéré comme étant de mettre à disposition un procédé amélioré d'évaluation quantitative d'un réarrangement ou d'une recombinaison génétique ciblée d'un individu humain, permettant de déterminer la nature d'au moins une recombinaison V(D)J ayant eu lieu dans l'échantillon.

3.2.8 La solution proposée est un procédé comprenant une PCR multiplex en présence de plusieurs couples d'amorces, dont au moins une s'hybride an amont ou en 5' d'un gène Vx et au moins une s'hybride en aval ou en 3' d'un gène Jy, et en ce que les étapes d'élongation de la PCR sont effectuées pendant au moins 10 minutes.

3.2.9 Cette solution ne peut cependant pas être considérée comme impliquant une activité inventive pour les raisons suivantes.

3.2.10 D2 décrivent un procédé essentiellement identique à celui décrit dans la demande d'évaluation quantitative et qualitative des réarrangements chromosomiques VJ par PCR multiplex appliqué au locus TCRAD de souris.

3.2.11 La question qui se pose est de savoir si la personne du métier aurait considéré comme une solution évidente d'adapter l'enseignement de D1 selon le procédé décrit par D2 afin de résoudre le problème posé.

3.2.11.1 Le Demandeur, citant D6, souligne qu'il ressort de l'art antérieur que le locus TCRA est trop complexe pour des analyses clonales de l'ADN (p. 8, l. 7-8). Toutefois, la revendication 1 ne se limite en rien à l'analyse du TCRA et l'existence ou non d'un préjugé à l'encontre de l'analyse du TCRA n'est donc pas pertinente quant à ladite revendication. Par ailleurs, bien que D6 (p. 5, col. gauche, se référant au programme BIOMED-2 décrit dans D5) et D5 (p. 2262, col. droite) indiquent que le locus TCRA n'est pas utilisé à cause de son niveau de complexité, D5 précise que l'analyse du TCRA serait redondante par rapport à d'autres cibles plus aisément détectables. Il apparaît donc que l'exclusion du TCRA de ces analyses résulte d'une recherche d'efficacité dans la méthode et non d'un préjugé à l'encontre de la faisabilité technique. Enfin, les travaux décrits dans D2 s'appliquent au locus TCRAD de souris qui comporte deux fois plus de gènes Valpha que chez l'homme, comme indiqué dans la demande (p. 5, l. 19-21) et apparaît donc comme étant d'un niveau de complexité égal sinon supérieur à celui du locus TCRA humain.

3.2.11.2 Au vu de ce qui précède, il serait évident pour la personne du métier de modifier l'enseignement de D1 selon le procédé d'évaluation quantitative et qualitative des réarrangements chromosomiques VJ par PCR multiplex d'après D2, aboutissant ainsi à un procédé selon la revendication 1. Il convient de noter que la conception d'amorces adaptées pour être utilisées dans ce procédé modifié, y compris d'amorces pouvant être utilisées pour une amplification multiplex, ainsi que l'adaptation des cycles d'amplification de PCR selon les produits à amplifier sont des procédures de routine bien connues de la personne du métier. La séquence du locus TCRAD humain étant à la disposition de la personne du métier, l'adaptation du procédé à ce locus particulier plutôt qu'à un autre locus TCR ou d'immunoglobulines représente un choix arbitraire (D4: résumé, l. 1-2).

3.2.12 Au vu de ce qui précède, les revendications 1 et 2 n'impliquent pas d'activité inventive.

La revendication 22 manque également d'activité inventive pour les mêmes raisons.

3.3 Les revendications dépendantes 3-14 ne semblent contenir aucune caractéristique qui, en combinaison avec celles de l'une quelconque des revendications à laquelle elles se réfèrent, définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne l'activité inventive. D'autre part, l'utilisation de procédés non inventifs d'évaluation du répertoire immunitaire dans le cadre des revendications 15 à 18 ne peut conférer d'activité inventive auxdits procédés, dont les étapes correspondent par ailleurs à des procédures standard de suivi d'un paramètre médical.

3.4 D3 et D1 peuvent être tous deux également considérés comme représentant l'état de l'art le plus proche quant aux revendications 20 (amorces V de séquences SEQ ID NO: 1-10 et amorces J de séquences 11-21) et 21 (sondes de détection de séquences SEQ ID NO: 22-37). Ces documents décrivent des acides nucléiques capables de s'hybrider à différents gènes V ou J du TCR alpha humain (D3: partie supérieure du Tableau 1; D1: p. 8, l. 30-35). Ces acides nucléiques sont susceptibles d'être mis en œuvre dans un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 18 comme amorces et également comme sondes.

3.4.1 L'objet des revendications 20 et 21 diffère de D3 ou D1 en ce que les amorces ou sondes revendiquées sont sélectionnées dans le groupe constitué par les amorces de séquences SEQ ID NO: 1-21 ou dans le groupe constitué par les sondes de séquences SEQ ID NO: 22-37. L'effet technique de cette différence peut être considéré comme étant de permettre l'amplification (amorces, rev. 20) resp. la détection par hybridation (sondes, rev. 21) de régions différentes du TCR alpha humain.

3.4.1.1 Le problème que se propose de résoudre la présente invention peut donc être considéré comme étant de mettre à disposition des amorces ou sondes supplémentaires à des fins d'amplification ou de détection par hybridation de régions alternatives du TCR alpha. La solution proposée consiste en les amorces de séquences SEQ ID NO: 1-21 et les sondes de séquences SEQ ID NO: 22-37.

3.4.1.2 Cette solution ne peut cependant pas être considérée comme impliquant une activité inventive pour les raisons suivantes: la séquence génomique complète du locus TCR alpha humain étant connue (D4: résumé, l. 1-2), et les procédures pour la conception d'amorces ou

de sondes étant des procédures de routine, la personne du métier cherchant à résoudre le problème posé aboutirait sans faire usage d'activité inventive à un large ensemble de fragments d'acides nucléiques utilisables comme sondes ou amorces. En l'absence de propriétés particulières, les amorces et sondes de séquences SEQ ID NO : 1-37 représentent une sélection arbitraire parmi l'ensemble auquel la personne du métier aboutirait. En conséquence, les revendications 20 et 21 n'impliquent pas d'activité inventive.

3.4.2 D'autre part, disposer des composants de façon à former un kit est une procédure de routine et ne peut pas, en tant que tel, former une base pour la reconnaissance d'une activité inventive. Les amorces et sondes de séquences SEQ ID NO: 1-37 i.e. telles que définies aux revendications 4 et 11 n'impliquant pas d'activité inventive, le kit de la revendication 19 est également considéré comme dénué d'activité inventive.

#### **4 POSSIBILITE D'APPLICATION INDUSTRIELLE (Art. 33(4) PCT)**

4.1 L'objet des revendications 1-22 est susceptible d'application industrielle au sens de l'Art. 33(4) PCT.